

ck

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001 年 11 月 8 日 (08.11.2001)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/82935 A1

(51) 国際特許分類<sup>7</sup>: A61K 31/7016, 31/702, 31/737,  
A61P 35/00, C12Q 1/02, A23L 1/30 // C07H 3/04, 3/06,  
C08B 37/00, G06F 17/30

(74) 代理人: 庄司 隆(SHOJI, Takashi); 〒101-0032 東京  
都千代田区岩本町3丁目2番10号 SN岩本町ビル6階  
Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/03621

(22) 国際出願日: 2001 年 4 月 26 日 (26.04.2001)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,  
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,  
DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID,  
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,  
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ,  
PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT,  
TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(30) 優先権データ:  
特願2000-131375 2000 年 4 月 28 日 (28.04.2000) JP  
特願2000-182124 2000 年 6 月 16 日 (16.06.2000) JP  
特願2001-67472 2001 年 3 月 9 日 (09.03.2001) JP

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW,  
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM,  
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許  
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG,  
CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社  
オリエンタキャンサーセラピー (ORIENT CANCER  
THERAPY CO., LTD.) [JP/JP]; 〒181-0015 東京都三鷹市  
大沢1丁目1番21号 Tokyo (JP).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

(72) 発明者; および  
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 八木田 旭邦  
(YAGITA, Akikuni) [JP/JP]; 〒181-0015 東京都三鷹市  
大沢1丁目1番21号 Tokyo (JP).

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される  
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語  
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: REMEDIES FOR CANCER

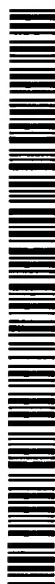
(54) 発明の名称: がんの治療剤

(57) Abstract: Remedies for cancer containing, as the main ingredient, saccharides having an  $\alpha 1 \rightarrow 3$  three-dimensional structure, in which use is made of an effect on NKR-P1 (natural killer receptor P1; i.e., a natural killer (NK) cell antigen receptor contained in natural killer T (NKT) cells in the ability to activating NKT cells) as an indication, and which are used in a formulation wherein the above activation can be sustained.

(57) 要約:

ナチュラルキラー T (N K T) 細胞の活性化能における N K T 細胞が有するナチュラルキラー (N K) 細胞抗原受容体である N K R - P 1 (ナチュラルキラー受容体 P 1) に対する作用を指標とし、その活性化を維持できる処方にて用いられる  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造を持つ糖類を主成分とするがんの治療剤を提供する。

WO 01/82935 A1



## 明細書

## がんの治療剤

## 5 技術分野

本発明は、ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化に着目したがんの治療剤、または NK T 細胞の活性化に着目し抗がん効果を期待して摂取する経口摂取用健康補助食品製剤に関する。

## 10 背景技術

がん (malignant neoplasms) (cancer) の予防または治療のために有用な物質の選別には、従来、がん細胞へのその直接的作用が重要視されていた。免疫賦活剤ががん治療に有用であることは認められていたが、免疫賦活剤として得られた化合物はいずれもその抗がん効果が微弱であり、免疫療法単独  
15 または化学療法との併用治療によってもがんの十分な治療効果は達成されていない。

本発明者の医学博士、八木田は、先にごがん治療における画期的な手法として、インターロイキン 12 (IL-12) を生体内で誘発する物質の有用性に着目し、椎茸菌糸体加工物である AHC C がその機能を有することを発見  
20 し、新免疫療法 (Novel Immunotherapy for cancer) (NITC) ともいうべきがん治療法を確立した。従来 IL-12 は、抗がん効果があるものの生体内に IL-12 自体を直接投与した場合には副作用を生じるために患者が治療に耐えられないという事実があり、それ自体を抗がん剤として使用できなかった。しかし、八木田が報告した AHC C を含む製剤は、がんの治療に  
25 おいて著しい治癒・延命効果を達成した。つまり八木田は、IL-12 を生体内で誘発できる有効量の AHC C を投与することにより、がんの治療目的を達成した (特開平 10-139670 号公報)。

IL-12は、インターフェロン $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) の産生増強作用、ならびに生体における細胞性免疫を担うナチュラルキラー (NK) 細胞、LAK細胞 (Lymphokine activated killer cell)、およびキラーT細胞の活性化効果と増強効果をもつ。IFN $\gamma$ は、生体の免疫応答をTヘルパー1細胞 (Th1) が作用する状態に誘導するサイトカインである。Th1が作用する状態とは、NK細胞やキラーT細胞が効果を発揮しやすい状態、すなわちインターロイキン2 (IL-2)、IL-12が大量に産生されている状態である。キラーT細胞およびLAK細胞は、がん免疫に係わる細胞として知られている。NK細胞についても生体の抗がん作用に係わるという報告がなされているが、NK細胞の活性と臨床的な抗がん効果とが相関せず、むしろIL-12の産生誘発量とNK細胞の活性とが完全な逆相関を示すことが八木田により証明されており、ヒトにおける抗がん作用にはNK細胞は関与していないものと結論付けられる。

現在では、八木田により、IL-12の産生誘発能をもつ物質が、有望な制がん物質になる可能性あることが確立された。

しかしながら、一部のがん患者においては、AHC投与によってもIL-12の産生が十分に誘発されず、治療効果が得られないこと、またIL-12の産生が誘発されても治療効果が得られないことがある。そのため、AHCの有する抗がん効果とは別な機序で作用する新たながん治療剤の開発が更に望まれていた。

がん免疫の作用機序において、生体内で産生または誘発されるサイトカインの量が重要な要素であることは公知であり、抗がん効果を有するとされるサイトカインを投与する、または誘発もしくは産生させてがんを治療する方法も、試みられ実施されている。しかし、がん免疫、がんサイトカインの関係が明らかになってきたものの、がんの治癒や延命効果は、50%以下の患者でしか認められなかった。更に近年、がん免疫に関与する細胞として見出されたNK細胞 (Cui J. et al., Science 278, 1623, 1997) は、強力な

サイトカイン産生能、とくにIFN $\gamma$ 産生能、およびFasやパーフォリンを介した細胞傷害性等の機能を持つ。従ってNK T細胞を活性化することにより、がん患者の治癒・延命効果が更に高くなることが期待される。

5 谷口等は、NK T細胞が有するV $\alpha$ 2.4 V $\beta$ 1.1という特異的なT細胞抗原受容体(TCR)が認識する特異的な糖脂質抗原を発見し、この抗原が、 $\alpha$ ガラクトシルセラミドであることを報告している。更に、 $\alpha$ ガラクトシルセラミドを投与した担がんマウスでは、NK T細胞が活性化され、がんの消失はみられないものの転移が抑制されることを証明した。

10 NK T細胞には、もう一つの受容体としてNK細胞抗原受容体(NKR-P1; ナチュラルキラー受容体P1)があることは報告されている(特集 NK T細胞の基礎と臨床: 最新医学55巻4号2000年818~823ページ)。NKR-P1もNK T細胞の活性化に関与する。

#### 発明の開示

15 本発明者はがんの予防または治療におけるがん免疫カスケードについて検討を重ね、がん免疫を担う活性化されたNK T細胞が関与するカスケードにおいて、NK T細胞の活性化に係わる2つの異なる抗原受容体、すなわちNKR-P1(ナチュラルキラー受容体P1)とV $\alpha$ 2.4 V $\beta$ 1.1の作用が全く異なるものであること、またNKR-P1の作用には $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3/1 $\rightarrow$ 6立  
20 体構造をもつ糖類は不十分であり、 $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 3立体構造を保持する糖類が極めて優れたこの受容体の活性化物質になりうることを見出した。これにより、NK T細胞の活性化能を有する新規で有用ながんの治療剤を提供することができる。

25 すなわち本発明の一態様は、ナチュラルキラーT(NK T)細胞の活性化能におけるNK T細胞が有するナチュラルキラー(NK)細胞抗原受容体であるNKR-P1に対する作用を指標とし、その活性化を維持できる処方にて用いられる $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 3立体構造を持つ糖類を主成分とする組成物である。

本発明の一態様は、ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能における NK T 細胞が有するナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R-P 1 に選択的に作用し、その活性化を維持できる処方にて用いられることを特徴とする  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造を持つ糖類を主成分とする組成物である。

5 本発明の一態様は、ナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R-P 1 に選択的に作用し、その結果としてインターフェロン  $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ) の大量生産を誘導し、かつ T ヘルパー 1 細胞 / T ヘルパー 2 細胞 (Th 1 / Th 2) 比を Th 1 が主に作用する免疫系が働く方向に誘導する処方にて用いられる  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造を持つ糖類を主成分とする組成物である。

10 本発明の一態様は、細胞表面マーカーである CD 3 および CD 161 を測定することによってナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R-P 1 の測定を行い、ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能を検定する前記いずれかの組成物である。

本発明の一態様は、 $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造を持つ糖類を主成分とする前記いずれかの組成物であって、以下の処方のいずれかに選択的に使用される組成物である；

- 1) 抗がん化学療法剤との併用療法への用途、
- 2) 放射線治療との併用療法への用途、
- 3) ステロイド療法との併用療法への用途、
- 20 4) NK R-P 1 への作用によるナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能が低下したがん患者への用途。

本発明の一態様は、前記いずれかの組成物を含む経口摂取用健康補助食品製剤である。

25 本発明の一態様は、細胞表面マーカーである CD 3 および CD 161 を測定することによってナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R-P 1 の測定を行い、ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能を検定する前記いずれかの組成物を含む経口摂取用健康補助食品製剤である。

本発明の一態様は、前記いずれかの $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造を持つ糖類を主成分とする組成物を含む経口摂取用健康補助食品製剤であって、以下の処方 of いずれかーに選択的に使用される経口摂取用健康補助食品製剤である；

- 1) 抗がん化学療法剤との併用療法への用途、
- 2) 放射線治療との併用療法への用途、
- 3) ステロイド療法との併用療法への用途、
- 4) NK R-P 1 への作用によるナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能が低下したがん患者への用途。

本発明の一態様は、前記いずれかの組成物に係る情報を担持した商業的媒体である。

本発明の一態様は、前記いずれかの組成物に係る情報を利用した商業方法である。

本発明の一態様は、ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能における NK T 細胞が有するナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R-P 1 に対する作用を指標としてスクリーニングすることを特徴とする $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造を持つ糖類を主成分とするがん治療剤のスクリーニング方法である。

本発明の一態様は、ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化における NK T 細胞が有するナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R-P 1 に対する作用を指標としてスクリーニングすることを特徴とする $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造を持つ糖類を主成分とするがん治療剤のスクリーニング方法であって、該 NK T 細胞の活性化を細胞表面マーカーである CD 3 および CD 161 の測定により NK R-P 1 の測定を行うことで検定するスクリーニング方法である。

本発明の一態様は、ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能における NK T 細胞が有するナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R-P 1 に対する作用を指標として検査することを特徴とする $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体

構造を持つ糖類を主成分とする組成物の有用性判定のための検査手段である。

本発明の一態様は、ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能における NK T 細胞が有するナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R - P 1 に対する作用を指標として検査することを特徴とする  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体  
5 構造を持つ糖類を主成分とする組成物の有用性判定のための検査手段であって、該 NK T 細胞の活性化能を細胞表面マーカーである CD 3 および CD 1 6 1 の測定により NK R - P 1 の測定を行うことで検定することを特徴とする検査手段である。

本発明の一態様は、前記検査手段を医療機関との連携においてがん治療の  
10 補助手段とする商業方法である。

#### 図面の簡単な説明

図 1 は対象全症例のインターフェロン  $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ) の変動を示す。

図 2 は CR、PR 症例のインターフェロン  $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ) の変動を示す。

15 図 3 は PD 症例のインターフェロン  $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ) の変動を示す。

図 4 は糖鎖構造と免疫活性の関係を示す。

図 5 はステロイド投与例 (臨床例 7) の免疫機能および各種腫瘍マーカーの測定結果を示す。

図 6 はステロイド投与例 (臨床例 8) の免疫機能および各種腫瘍マーカー  
20 の測定結果を示す。

図 7 はステロイド投与例 (臨床例 9) の免疫機能および各種腫瘍マーカーの測定結果を示す。

#### 発明を実施するための最良の形態

25 以下、本発明を詳しく説明するが、本明細書中で使用されている技術的および科学的用語は、別途定義されていない限り、本発明の属する技術分野において通常の知識を有する者により普通に理解される意味を持つ。

本発明は、臨床における効果とサイトカインの相関性を検討することにより行われた。本発明者は、ここにおいて新免疫療法（NITC）として、進行末期がん患者に茸菌糸体由来物と血管新生阻害作用物質（サメ軟骨）を併用し、IL-12、IFN $\gamma$ 、IL-10等の各種サイトカインを測定した。

- 5   そして、その結果Th1/Th2比とIL-12、Th1/Th2比とIFN $\gamma$ 、IFN $\gamma$ とIL-12、IL-12とCD3 $\times$ CD161（NKR-P1）陽性細胞（CD3+CD161+）の割合、IFN $\gamma$ とCD3 $\times$ CD161（NKR-P1）陽性細胞の割合には強い正の相関、IL-12とV $\alpha$ 24V $\beta$ 11陽性細胞（V $\alpha$ 24+V $\beta$ 11+）の割合には強い逆相関の  
10   あることが判明した。またV $\alpha$ 24V $\beta$ 11・T細胞抗原受容体が刺激を受けたNK T細胞は、IL-12産生量と強い逆相関を示し、IFN- $\gamma$ 産生量およびTh1/Th2比とも弱い逆相関を示すことを証明し、V $\alpha$ 24V $\beta$ 11への刺激が免疫機能の抑制に働くことを立証した。おそらく、V $\alpha$ 24V $\beta$ 11への刺激は、インターロイキン4（IL-4）の大量生産を導き  
15   細胞性免疫抑制に作用するものと推定された。

一方、NK T細胞のNK細胞抗原受容体NKR-P1が刺激を受けた場合には、NK T細胞はIL-12およびIFN- $\gamma$ と強い正の相関を示し、Th1/Th2比とも弱い正の相関を示すことを証明し、NKR-P1への刺激は免疫機能の活性化に働くことを立証した。

- 20   しかし、上記検討において使用した茸菌糸体由来物は、 $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3/1 $\rightarrow$ 6立体構造からなる糖類を含むものであり、そのNK T細胞活性化作用は必ずしも十分ではなかった。本発明者は、種々の候補化合物のスクリーニングを行い、その結果、 $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 3立体構造を有する糖類が極めて選択的にしかも強力にNKR-P1に作用することを見いだし（図4）、本発明を完成した。

- 25   すなわち、NK T細胞の活性化能を有する物質をスクリーニングするに際しては、少なくともNKR-P1に対する作用を指標とし、 $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 3立体構造を有する化合物を選別することが必要であり、しかもその作用がNK T細胞



胞の活性化においてNK細胞抗原受容体であるNK R-P 1に対して選択的であることを指標として選別を行うことが好ましい。加えるに、その作用は、 $V\alpha 24 V\beta 11$ には影響しないものであることが重要である。この様にして選別された物質の選択的作用の結果として、 $IFN\gamma$ の大量生産が誘導され、かつ免疫応答において免疫系がTh 1の働く方向に誘導されることが可能になるため、該選別された物質を用いることにより極めて有用ながん免疫療法のための治療剤を提供することができる。また、この有用な物質は、例えば当該物質を生体内に投与したとき、NK R-P 1を保持する細胞、すなわち細胞表面マーカーであるCD 3×CD 16 1を有する細胞を刺激するかどうかで、その有用性を検定することが出来る。

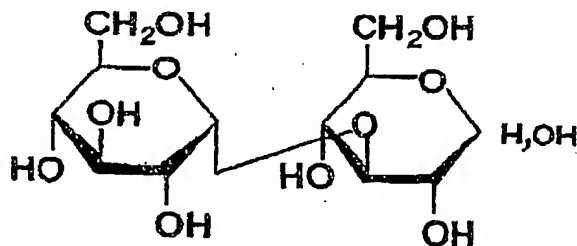
本発明は、上記NK T細胞のNK R-P 1に選択的に作用してNK T細胞を活性化する能力を有する $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造の糖類物質を有効量含む組成物を提供する。

NK T細胞のNK R-P 1に選択的に作用してNK T細胞を活性化する能力を有する $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造の糖類物質としては、例えば、ニゲロオリゴ糖(TSO)、フコイダン、硫酸オリゴ糖等が挙げられる。

ニゲロオリゴ糖は、 $3-O-\alpha-D$ -グルコピラノシル-D-グルコースを構成単位として含有する糖類である。代表的なものとしては、下記のようなニゲロース(化学式1)、ニゲロシルグルコース(化学式2)、ニゲロシルマルトース(化学式3)等が挙げられる。

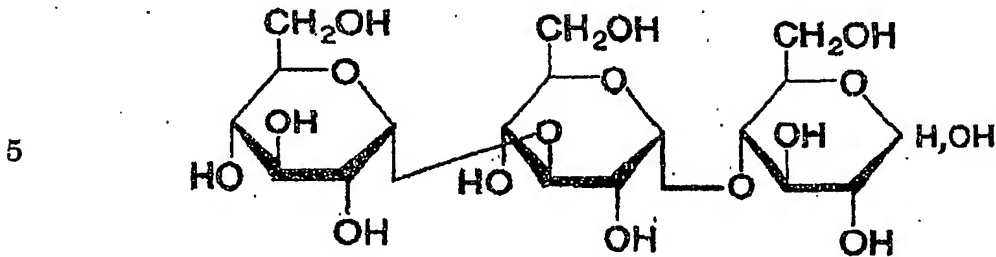
[化学式1]

ニゲロース



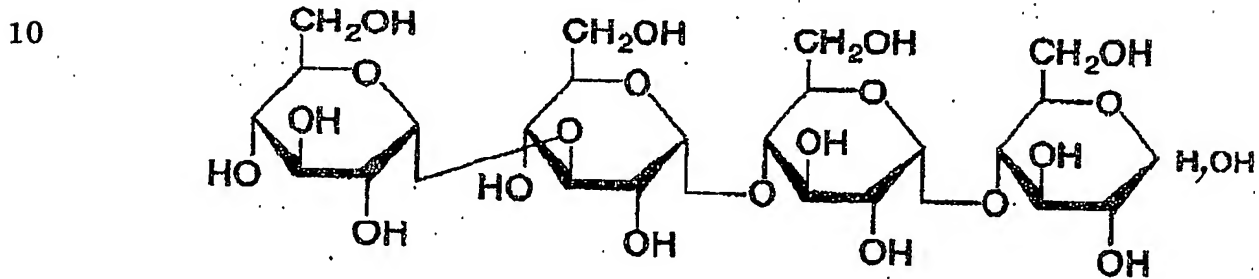
## [化学式 2]

## ニゲロシルグルコース



## [化学式 3]

## ニゲロシルマルトース



15      また、市販されているニゲロオリゴ糖としては、ニゲロオリゴ糖液糖（販売者・武田食品工業株式会社）が挙げられるが、これが含有する主なニゲロオリゴ糖は①ニゲロース  $\alpha$ -D-Glc *p*-(1 $\rightarrow$ 3)-D-Glc ②ニゲロシルグルコース  $\alpha$ -D-Glc *p*-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -D-Glc *p*-(1 $\rightarrow$ 4)-D-Glc ③ニゲロシルマルトース  $\alpha$ -D-Glc *p*-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -D-Glc *p*-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-Glc *p*-(1 $\rightarrow$ 4)-D-Glc（なお、Glc はグルコース、*p* はピラノースの略号である）

20      である。

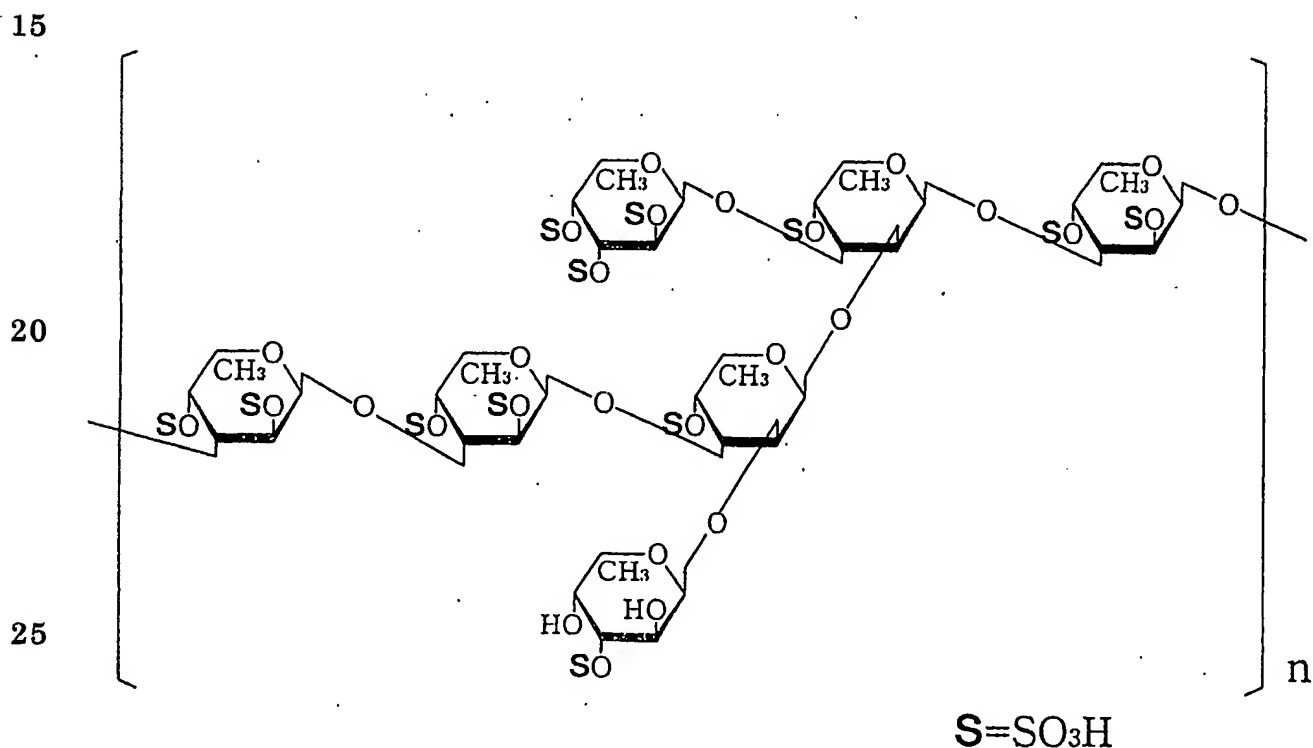
フコイダンは、狭義ではフコースの2乃至6分子に硫酸1分子が結合した硫酸化フコース含有多糖類であり、これにキシロースあるいはウロン酸を含有したフコイタン様多糖体を食品レベルで「フコイタン」と称している。フ

25      コイタンは、例えばコンブを破碎し、チップ化し、水溶液成分を抽出した後、抽出残渣を遠心分離により除去し、ヨードや塩化ナトリウム等の低分子物質を限外ろ過により除去して凍結乾燥化して製剤化される。

フコイダンとしては、褐藻類由来フコイダン、例えばガゴメコンブ由来のフコイダン、およびオキナワモズク由来フコイダン等が例示される。ガゴメコンブ等の褐藻類コンブ科由来のフコイダンには少なくとも3種類のフコイダン、F-フコイダン( $\alpha$ -L-フコースのポリマー)、U-フコイダン( $\beta$ -D-グルクロン酸と $\alpha$ -D-マンノースを主鎖とし、側鎖に $\alpha$ -L-フコースをもつ)、G-フコイダン( $\beta$ -D-ガラクトースを主鎖とし、側鎖に $\alpha$ -L-フコースをもつ)、が存在しており、いずれのフコイダンもフコースが硫酸化されている。以下に、ガゴメコンブ由来フコイダン(宝酒造株式会社)のF-フコイダン(化学式4)、U-フコイダン(化学式5)、およびG-フコイダン(化学式6)の構造を示す。また、褐藻類ナガマツモ科のオキナワモズク由来フコイダンの構造について宝酒造株式会社製のもの(化学式7)と森下仁丹社製(化学式8)のものとを下記に示す

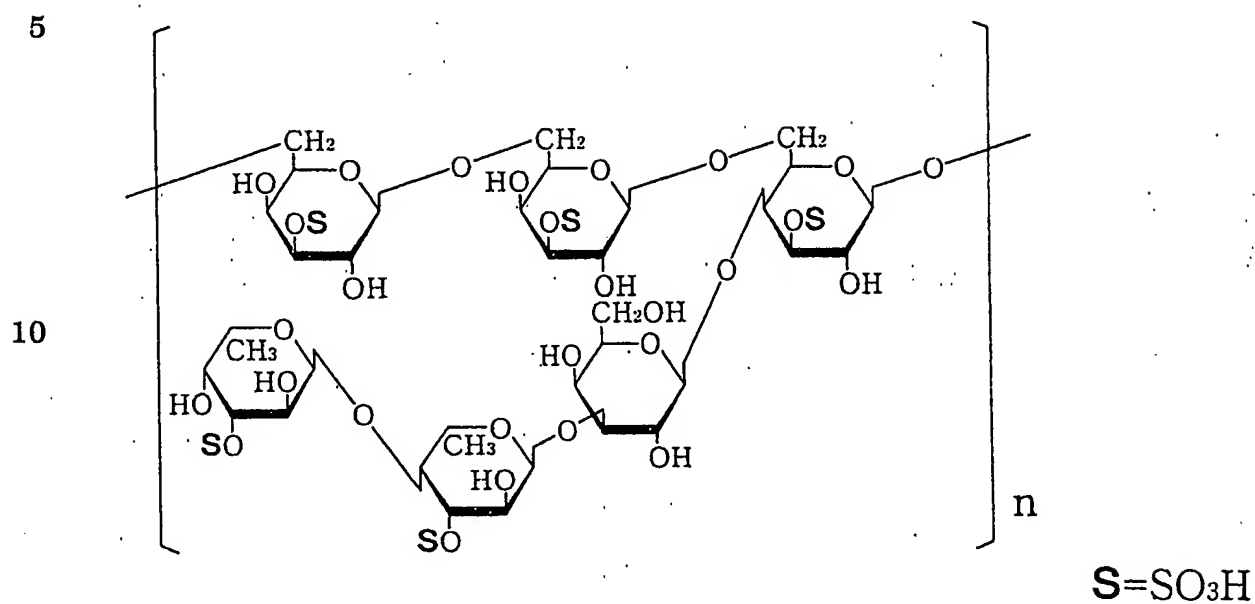
[化学式4]

ガゴメコンブ由来F-フコイダン/硫酸化フカン：フコースだけからなる糖



## [化学式 5]

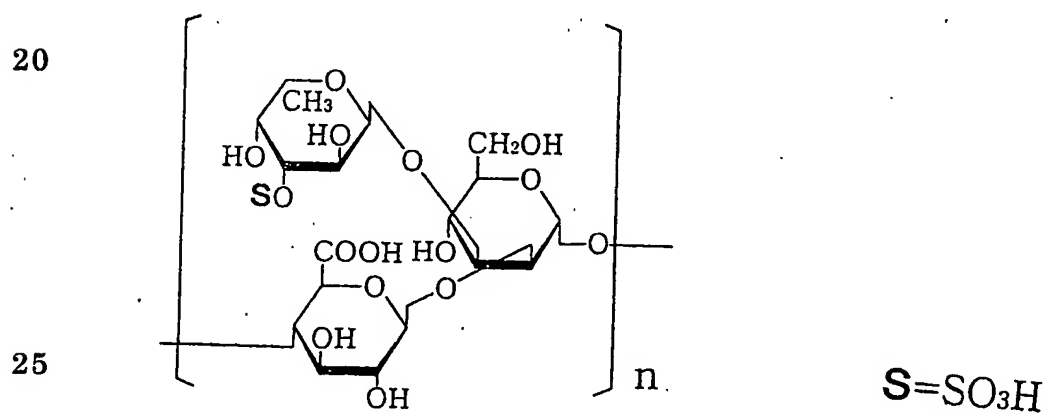
ガゴメコンブ由来 G-フコイダン/硫酸化フコガラクトタン：ガラクトースとフコースからなる糖



15

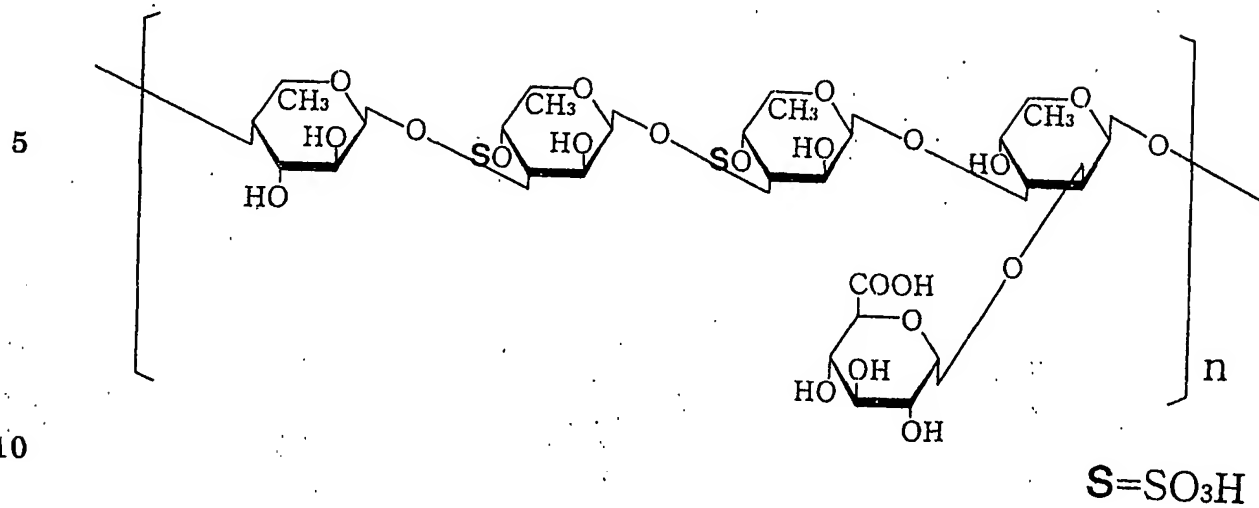
## [化学式 6]

ガゴメコンブ由来 U-フコイダン/硫酸化フコグルクロンマンナン：グルクロン酸とマンノースとフコースからなる糖



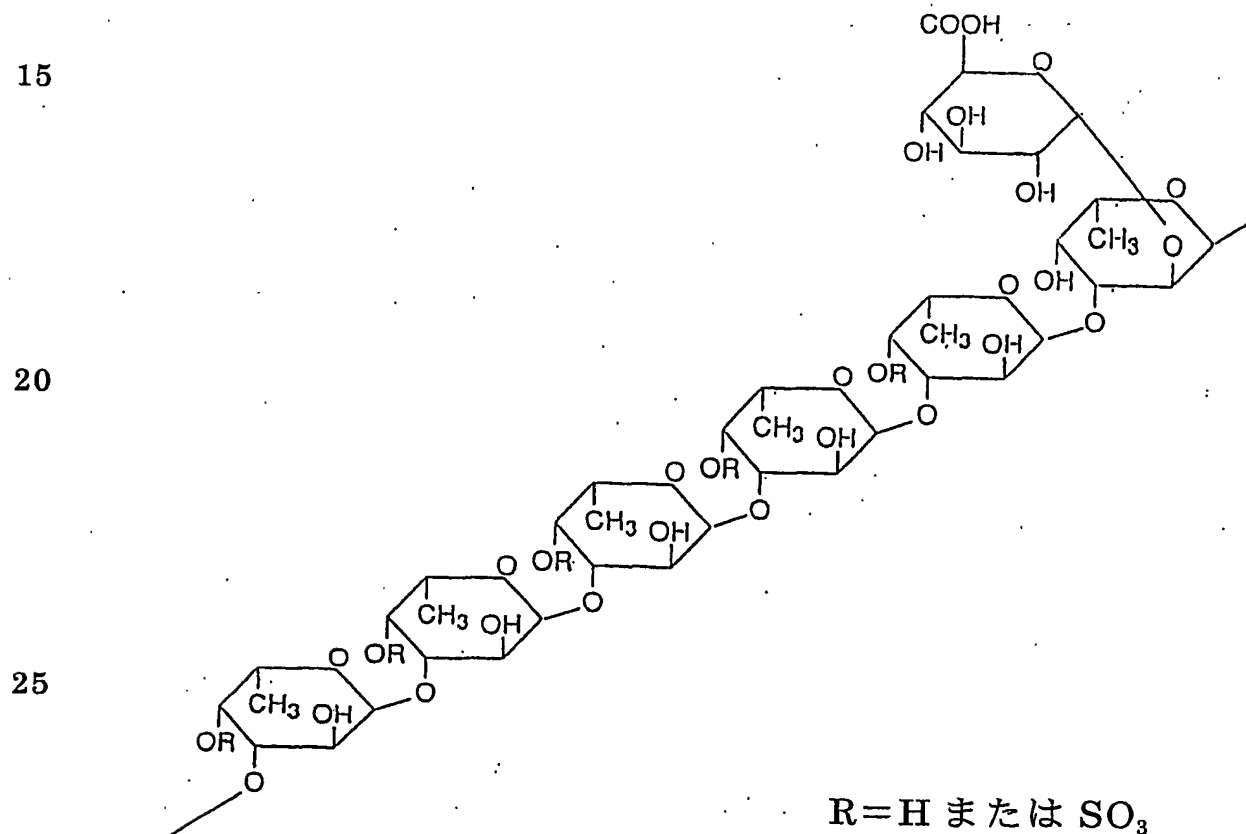
## [化学式 7]

オキナワモズク由来フコイダン (宝酒造株式会社製)



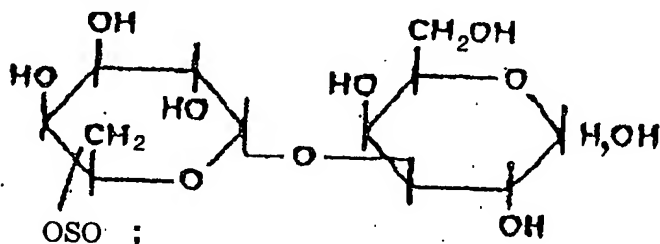
## [化学式 8]

オキナワモズク由来フコイダン (森下仁丹社製)



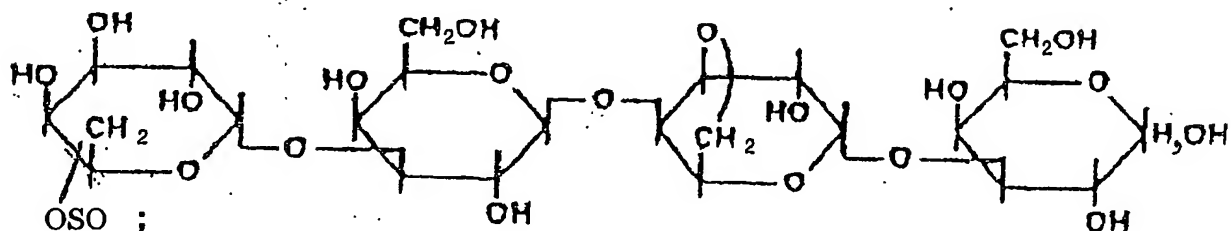
硫酸オリゴ糖としては、例えば株式会社白子製のスサビノリ (*Poryphyra Yezaensis*) 由来の抽出物があげられる。該抽出物の主成分は $\alpha 1 \rightarrow 3$ 結合のガラクトサン硫酸のオリゴ糖 (化学式 9) と $\alpha 1 \rightarrow 3$ 結合および $\beta 1 \rightarrow 4$ 結合よりなるガラクトサン硫酸のオリゴ糖 (化学式 10) である。

5 [化学式 9]



10

[化学式 10]



15

本発明に係る組成物は、上記 $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造を持つ糖類物質等から選ばれる少なくとも一種類を活性成分とする。なお、当該活性成分はこれら例示された物質に限定されず、 $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造の糖類物質 ( $\alpha 1 \rightarrow 3$ グルコシド結合構造をもつ糖成分) であって、しかもNK T細胞のNK R-P 1に選択的に作用してNK T細胞の活性化能を有する物質を広く対象とする。

20

NK R-P 1に選択的に作用してNK T細胞を活性化せしめる物質は、 $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造をもった多糖類および／または2～10個のオリゴ糖を含む組成物であってもよい。

25 本発明に係る上記 $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造を持つ糖類物質を主成分とする組成物は、がんの治療剤として使用することができる。

当該がんの治療剤は、肺癌 (肺扁平上皮癌、肺腺癌、小細胞肺癌)、胸腺腫、

甲状腺癌、前立腺癌、腎癌、膀胱癌、結腸癌、直腸癌、食道癌、盲腸癌、尿管癌、乳癌、子宮頸癌、脳腫瘍、舌癌、咽頭癌、鼻腔癌、喉頭癌、胃癌、肝癌、胆管癌、精巣癌、卵巣癌、子宮体癌、転移性骨癌、悪性黒色腫、骨肉腫、悪性リンパ腫、形質細胞腫、脂肪肉腫等の治療に有効であるが、これらのがん

5 んに限定されない。

本発明に係る組成物またはがんの治療剤は、NK T細胞の活性化能におけるNK T細胞が有するNK R-P 1に対する作用を指標として、その活性化を誘導または増強し、さらに活性化を維持できる処方にて用いられる。すなわち、前記組成物およびがんの治療剤は、NK T細胞の活性化能におけるNK

10 K T細胞が有するNK R-P 1に対する作用を指標として、その活性化を誘導または増強し、さらに活性化を維持できる投与量、ならびに投与期間を選択して用いられる。具体的には、その投与量は10 g～40 g/日程度、好ましくは10 g～20 g/日程度である。また、投与期間は一般的には10日間～24ヶ月間、投与頻度は1～3回/日で、好ましくは連日投与である。

15 当該組成物またはがんの治療剤は、好適には経口摂取される。無論、投与量を減少させ、これらを非経口に耐え得る品質に調製することで、非経口摂取（静脈内または筋肉内投与などを含む）も可能である。

また、前記がんの治療剤は、NK T細胞のNK R-P 1に選択的に作用してNK T細胞を活性化せしめる $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造の糖類物質を有効量含む組成物に加えて、IL-12の産生を誘発し得る組成物を有効量含んでいてもよい。

20

また、本発明に係る上記 $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造を持つ糖類物質を有効量含む組成物は、摂取した結果として抗がん効果を期待できる経口摂取用健康補助食品製剤として提供することもできる。さらに、当該経口摂取用健康補助食品製剤は、IL-12の産生を誘発し得る組成物を有効量含んでいてもよい。

25

経口製剤は、錠剤、散剤、カプセル剤、シロップ剤等に調製される。製剤は、無論既知の賦形剤、崩壊剤、結合剤、滑沢剤等必要な添加物を配合し、

常套手段を使用することでも製剤化できる。更に必要に応じて、矯味剤、着色料、香料、安定剤、殺菌剤、防腐剤等の添加も可能である。

また、本発明の別の態様は、本発明に係る $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造の糖類物質である組成物の疾患別適用についての新規な用途に関する。抗腫瘍免疫能力には2種類の免疫系が係わっており、その一つは①TNF $\alpha$ （腫瘍壊死因子 $\alpha$ ）  
5  $\rightarrow$ IFN $\gamma \rightarrow$ IL-12 $\rightarrow$ キラーT細胞の系統であり、他の一つは②NKT細胞活性化 $\rightarrow$ パーフォリン（がん細胞膜穿孔因子）の系統である。これまでの新免疫療法（NITC）ではこの2系統に対して同程度の治療成績が認められている。すなわち①IL-12 $\rightarrow$ キラーT細胞活性 $\rightarrow$ アポトーシスの系統  
10 が活性化された結果として治療効果が得られた例と、②NKT細胞活性 $\rightarrow$ パーフォリン $\rightarrow$ アポトーシスの系統が活性化された結果として治療効果が得られた例とが約半数ずつ認められている。しかし、抗がん剤、放射線、あるいはステロイド併用療法を行った場合、上記2種類の免疫系のうち、TNF $\alpha$   
15  $\rightarrow$ IFN $\gamma \rightarrow$ IL-12 $\rightarrow$ キラーT細胞の系統が著しく障害されることが初めて判明した。一方、NKT細胞活性 $\rightarrow$ パーフォリンの系統は全く障害されていないことを新たに見いだした。

この現象に立脚しがん治療法を新たに組みなおすことにより、本発明の別の態様を完成した。

すなわち、抗がん剤、放射線、あるいはステロイド併用療法をがん治療に  
20 組み込むときは、②の免疫系が強力であれば併用療法は可能であり治療効果は良好となる。しかし②の免疫系が弱く①の免疫系のみが強い場合、併用療法は失敗することが予想される。この場合は、本発明に係るNKT細胞活性化物質である $\alpha 1 - 3$ 糖（ $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造の糖類物質）の投与、すなわち  
25 ②の免疫系を強化するNKT細胞のNK受容体を活性化する $\alpha 1 - 3$ 糖の併用が必要となる。もしくは抗がん剤を投与するとき、①の免疫系を障害しない投与方法である低濃度化学療法すなわち5FU、UFT、ミフロール、フルツロン、CDDP（5 $\mu$ g $\sim$ 10 $\mu$ g）の低濃度やタキソテールあるいはタキソ



ール、アドリアマイシン、マイトマイシン、CPT-11などの低濃度抗がん剤の投与法等を適用することが不可欠である。また同様に放射線療法において低容量照射の適用、ステロイド療法においても低濃度投与等を選択する必要がある。

5 従って抗がん剤、放射線、あるいはステロイド療法を行う場合は、これらの療法を施される対象の各種免疫能力の測定は不可欠であり、その測定結果を踏まえて②の免疫系が強力な場合はこれを温存するべくNK T細胞の活性化能を有する物質すなわち $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造を有する糖類物質の投与が必要であり、②の系統の免疫力が減弱している場合はさらに $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造を  
10 有する糖類物質の大量投与あるいは直接体内投与、例えば注射による投与が必要となる。また①の系統の免疫能力のみが作用している場合は、①の免疫系を障害しない程度の抗がん剤投与すなわち低濃度投与もしくは抗がん剤投与による①免疫系をすみやかに立ち上げる方法をこうじるべく①免疫系の強化すなわちIL-12誘導物質の大量投与が必要となる。

15 さらに、上記 $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造を持つ糖類物質を主成分とする組成物ががん治療に用いられたとき、ナチュラルキラーT (NK T) 細胞の活性化能におけるNK T細胞が有するナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体であるNK R-P 1に対する作用を指標とする検査手段により、該組成物の有効性判定を行うことができる。このとき、NK T細胞のNK R-P 1に対する選  
20 択的な作用によるNK T細胞の活性化は、細胞表面マーカーであるCD 3及びCD 161の測定によりNK R-P 1の測定を行うことで検定できる。

さらにまた、前記検査手段を医療機関との連携においてがん治療の補助手段とする商業方法も、本発明の範囲に含まれる。

以上説示したように本発明は、NK T細胞のNK R-P 1に選択的に作用  
25 してNK T細胞を活性化せしめる $\alpha 1 \rightarrow 3$ 立体構造の糖類物質を含む組成物を提供し、更にIL-12産生誘発能とNK T細胞のNK R-P 1に選択的に作用してNK T細胞を活性化する能力との関係を明らかにしたものである

から、これらのことを商業的媒体に担持させれば、当該製品の価値について差別化手段となる。従って、これらの情報を担持させた商業的媒体は、極めて有用性の高いものである。上記商業用媒体とは、パンフレット、冊子、もしくは刊行物等の印刷物、フロッピーディスク (FD)、MO、もしくはCD-ROM等の磁気記録媒体、またはインターネット等の広域情報伝達媒体等を意味する。その上、これら情報を商業的に利用すれば、当該製品の価値について差別化手段となるから、これら情報を利用した商業方法は、極めて有用性の高いものである。

細胞および各サイトカインの測定方法を以下に例示する。

#### 10 (NK T細胞の測定)

NK R-P 1を有するNK T細胞の測定は、NK T細胞の細胞表面に特異的に存在する細胞表面抗原 (CD 3およびCD 161) の測定により行うことができる。具体的には、末梢血中のリンパ球について、CD 3が陽性でかつCD 161が陽性 (CD 3 + CD 161 +) の細胞を検定する。つまり、

15 NK T細胞の細胞表面抗原であるCD 3およびCD 161を、モノクローナル抗体を用いてフローサイトメトリーを使用する Two Color 検査により測定する。ここでNK T細胞が活性化されているとは、リンパ球の中でCD 3 + CD 161 + NK T細胞の割合が10%以上、より好ましくは16%以上であることをいう。NK T細胞活性化能とは、NK T細胞の割合を10%以上、  
20 より好ましくは16%以上に増加せしめる機能、またはある物質を投与する前のNK T細胞の割合より更に増強せしめる機能を意味する。

実施例ではがん患者の血液を用いて、血中細胞について細胞表面抗原であるCD 3およびCD 161が陽性である細胞の割合を、フローサイトメトリーを用いた Two Color 検査により常法通り測定した。このときCD 3および  
25 CD 161に対するモノクローナル抗体は、それぞれコールター社製のCD 3-PC 5ならびにベクトンディッキンソン社製のCD 161を使用した。

V $\alpha$ 24 V $\beta$ 11・NK T細胞の測定は、NK T細胞の細胞表面に特異的

に存在する細胞表面抗原 ( $V\alpha 24$  および  $V\beta 11$ ) の測定により行うことができる。具体的には、末梢血中のリンパ球について、 $V\alpha 24$  陽性でかつ  $V\beta 11$  陽性の細胞を検定する。つまり、NK T細胞の細胞表面抗原である  $V\alpha 24$  および  $V\beta 11$  を、モノクローナル抗体 (TCR- $V\alpha 24$  PE、  
5 TCR- $V\beta 11$  FITC) (Beckman Coulter 社製) を用いてフローサイトメトリーを使用する Two Color 検査により測定する。

(パーフォリン産生細胞の測定)

末梢血中のリンパ球について、細胞表面抗原である CD 3 および CD 1 6  
1 が陽性でかつパーフォリンが陽性の細胞の割合を、フローサイトメトリー  
10 を用いた Three Color 検査により常法通り測定する。具体的には、採取した血液に固定液を加えて細胞を固定し、膜透過液を添加後抗パーフォリン抗体 (Pharmingen 社製) を添加して反応させ、さらに PRE-Cy 5 標識二次抗体 (DAKO 社性) を添加して反応させ、ついで抗 CD3-PE (Coulter 6604627) 抗体および抗 CD161-FITC (B-D) 抗体を添加して反応させ、  
15 の後フローサイトメトリーで測定する。

(サイトカインを測定するための試料の調製)

まず、血液より単核球画分を分離調製する。ヘパリン加末梢血をリン酸緩衝生理食塩水 (Phosphate Buffered Saline) (PBS) で 2 倍に希釈して混和した後、Ficoll-Conray 液 (比重 1.077) 上に重層し、400 G で 20  
20 分間遠沈後、単核球画分を採取する。洗浄後、10%牛胎児血清 (FBS) を加えた RPMI-1640 培地を加え、細胞数を  $1 \times 10^6$  個となるように調製する。得られた細胞浮遊液 200  $\mu$ l にフィトヘマグルチニン (Phytohemagglutinin) (DIFCO 社製) を 20  $\mu$ g/ml の濃度となるように加え、96穴マイクロプレートにて 5%  $CO_2$  存在下、37°C で 24 時間  
25 培養し、該培養した細胞溶液中のサイトカインを測定する試料とする。

(IL-12 の測定)

IL-12 量の測定は自体公知の臨床、生化学的検査を利用できるが、

R&D SYSTEMS 社や MBL 社より入手することのできる酵素免疫測定法 (ELISA) による測定キットが使用される。ここでは R&D SYSTEMS 社の測定キットを用いた。実際には 96 穴マイクロプレートの各穴に測定用希釈液 Assay Diluent RD1F を  $50\ \mu\text{l}$ 、標準液 (standard) または実施例 1 で調製した試料を  $200\ \mu\text{l}$  ずつ分注した後、室温にて静置して 2 時間反応させた。その後、西洋わさびパーオキシダーゼ (horse radish peroxidase) (HRP) 標識抗 IL-12 抗体を  $200\ \mu\text{l}$  ずつ分注し 2 時間室温で静置した。各穴の反応液を除去し 3 回洗浄後、発色基質溶液を  $200\ \mu\text{l}$  ずつ分注し、20 分間室温静置後、酵素反応停止溶液を  $50\ \mu\text{l}$  ずつ分注した。550 nm を対照として 450 nm における各穴の吸光度を Emax (和光純薬株式会社製) にて測定した。IL-12 量は、 $\text{pg/ml}$  として表される。ここで IL-12 産生誘発能とは、末梢血単核球画分が刺激により産生する IL-12 量を、 $7.8\ \text{pg/ml}$  以上に増強せしめる機能、またはある物質を投与する前の IL-12 産生量より増強せしめる機能を意味する。

#### 15 (IFN $\gamma$ の測定)

IFN $\gamma$  の測定は、BioSource Europe S.社の IFN $\gamma$  EASIA キットを用いて、酵素免疫測定法 (EIA 法) で測定した。実際には 96 穴マイクロプレートの各穴に標準液 (standard) または上記調製した試料を 2 倍希釈したものを  $50\ \mu\text{l}$  ずつ分注し、HRP 標識抗 IFN- $\gamma$  抗体を  $50\ \mu\text{l}$  ずつ分注し更に振盪しながら 2 時間室温で反応させた。各穴の反応液を除去し 3 回洗浄後、発色基質溶液を  $200\ \mu\text{l}$  ずつ分注し、振盪しながら 15 分間室温で反応させ、酵素反応停止溶液を  $50\ \mu\text{l}$  ずつ分注した。630 nm を対照として 450 nm および 490 nm における各穴の吸光度を Emax (和光純薬株式会社製) にて測定した。IFN $\gamma$  量は、 $\text{IU/ml}$  として表される。

#### 25 (IL-10 の測定)

IL-10 の測定は、BioSource Europe S.社の IL-10 EASIA キ

ットを用いて、固相酵素免疫測定法（E L I S A 法）で測定した。方法は、抗 I L - 1 0 抗体を用いる以外は、I F N  $\gamma$  の測定方法に準じて行った。I L - 1 0 量は、p g / m l として表される。

（T h 1 / T h 2 細胞比の測定）

- 5      T h 1 / T h 2 細胞比は、フローサイトメトリーによるヘルパー T ( T h ) 細胞系統 Three Color 解析検査によって常法により検定した。T h 1 / T h 2 とは、細胞表面抗原 C D 4 を有するヘルパー T 細胞のなかで I F N  $\gamma$  を産生する細胞 ( T h 1 ) と I L - 4 を産生する細胞 ( T h 2 ) の比率を表すものである。
- 10      まず血液を、ホルボール 1 2 - ミリステート - 1 3 - アセテート ( Phorbol 12-Myristate 13 Acetate ) とイオノマイシン ( Ionomycin ) により 3 7 ° C で 4 時間処理し、血液中の細胞を刺激してサイトカインを産生させた。次いで
- 15      プレフェルジン A ( Breferdin A ) を加えて産生反応を停止させ、抗 C D 4 抗体である C D 4 - P C 5 ( Beckman Coulter 社製 ) を用いて細胞表面マーカーである C D 4 を染色し、細胞を固定後、FACS Lysing Solution ( 日本ベク
- 20      トンディッキンソン社製 ) を用いて溶血処理した。その後、FACS Permeabilizing Solution ( 日本ベクトンディッキンソン社製 ) により細胞膜透過処理を行い、更に抗 I F N  $\gamma$  抗体 / 抗 I L - 4 抗体 ( FASTIMMUNE IFN  $\gamma$  FITC / IL-4 PE ) ( 日本ベクトンディッキンソン社製 ) で細胞内のサ
- 25      イトカインを染色して、フローサイトメーター ( FACS Calibur ) ( Becton Dickinson 社製 ) で測定および解析を行った。

#### 実施例

- 本発明の実施例として臨床例を示し、さらに具体的に説明するが、本発明
- 25      はこれらに限定されるものではなく、本発明の技術的思想を逸脱しない範囲内で種々の応用が可能である。

また、各臨床例において測定した各種腫瘍マーカーは、それぞれ公知の手

法により測定した。図中で各検査項目の下に表示した数値は、各項目の正常値を示すものである。また用いた療法の有効性を、日本国厚生省の GCP に基づく抗がん剤の効果判定基準 (Standard for judgement of the efficacy of anti-cancer agent under GCP of the Japan Ministry of Health and Welfare) に則って、完全治癒 (CR)、部分治癒 (PR)、無反応 (がんの進展無し) (NC : No Change)、または無効 (PD : Progressive Disease) として表した。

(臨床例 1)

ニゲロオリゴ糖 (TOG) を 12.0g/日投与し、制がん効果の有効例を得た。

患者は、67 才の女性で S 状結腸癌であった。初診時、IL-12 は产生されているが、NK T 細胞の割合は 11.8% であり、また NK T 細胞のパーフォリン (PERF) 産生能力も 4.3% 以下であり、NK T 細胞は活性化されていなかった。その後 4 ヶ月間、茸菌糸体成分を投与しつつけても NK T 細胞の活性化が得られなかった。しかし IL-12 は产生されているため、STN と ICTP の腫瘍マーカーは上昇せず NC と判定された。

その後、 $\alpha$ 1-3 グルカン構造をもつ TOG の一日量 12.0g を 3 回に分けて投与した。TOG の投与は連日行った。その結果、約 3 ヶ月後に NK T 細胞の割合は 24.4% と著増し、NK T 細胞のパーフォリン産生能力も 6.5% と増加して NK T 細胞の活性化がみられた。さらに 1 ヶ月後には、STN が 45U/ml、ICTP が 4.6ng/ml と正常値にまで低下して、腹腔内リンパ節転移も消失した。

すなわち、TOG を 12.0g/日投与することにより、NK T 細胞数とパーフォリン産生能力がレベルアップして腫瘍マーカーが低下し転移性リンパ節が消失したものと考えられる。

(臨床例 2)

硫酸オリゴ糖 (株式会社白子製) 20.0g/日投与し、制がん効果の有効例

を得た。

55才の男性であって、原発不明の癌で肋骨、胸椎、腰椎などの多発骨転移の症例に茸菌系体成分とサメ軟骨、および $\alpha 1-3$ グルカンを大量に含む硫酸オリゴ糖（株式会社白子製）の一日量 20.0g を3回に分けて投与した。硫酸オリゴ糖の投与は連日行った。IL-12はほとんど産生されていないにもかかわらず各腫瘍マーカーの値は著明に改善した。4ヶ月後にはNK T細胞の割合が 17.9%と増加し、そのパーフォリン産生能力も活性化されて 4.7%となり、骨転移およびそれによる疼痛も著明に改善した。この間IL-12はほとんど産生されていない。

- 10 この症例における骨転移およびそれによる疼痛の改善は、硫酸オリゴ糖（株式会社白子製） 20g/日の投与によりNK T細胞数とそのパーフォリン産生能力がレベルアップしたことによると考えられる。

（臨床例3）

- 15 ニゲロオリゴ糖（TOG）を 12.0g/日投与し、制がん効果の有効例を得た。

- 73才の肺腺癌の男性で、初診時から新免疫療法（NITC）（茸菌系体成分＋鯨軟骨処方）を開始した。IL-12は産生されており、腫瘍マーカーのうちNCC-ST-439とSLX-1は低下しているがCEAとCa15-3は低下していなかった。8ヶ月後のTOG投与前までは一部の腫瘍マーカーが低下した事実よりPRと判定された。その後TOGの一日量 12.0g を3回に分けて投与した。TOGは連日投与した。2ヶ月後にはNK T細胞の割合は 27.4%と増加し、NK T細胞のパーフォリン産生能力も活性化されて 13.3%となった。その結果、CEA、NCC-ST-439は正常化し、その他の腫瘍マーカーであるCa15-3は 82U/ml、SLX-1も 59U/mlと著減し、さらに症状の改善が認められた。

この例でもIL-12産生による免疫増強と、NK T細胞数の増加とその機能の活性化による免疫増強とにより、がん治療法の有効性が増強されたと

考えられる。

(臨床例 4)

硫酸オリゴ糖（株式会社白子製）を 20.0g/日投与し、制がん効果の有効例を得た。

- 5 68 才で直腸癌、肝転移の男性に NITC 治療を開始した。5 ヶ月後まで腫瘍マーカーのうち C a 1 9 - 9 と I C T P は変化がなかったが、C E A の増加傾向が認められた。5 ヶ月目から硫酸オリゴ糖（株式会社白子製） 20.0g/日の連日投与を開始した。その後 2 ヶ月目には N K T 細胞の割合が 22.2%と増加し、N K T 細胞のパーフォリン産生能力も活性化されて 7.8%となり、
- 10 以降同様に N K T 細胞活性が持続した。この間腫瘍マーカーはすべて正常化し C R となった。

- この症例では I L - 1 2 は初めから産生されていたが臨床的改善は N C であった。しかし硫酸オリゴ糖（株式会社白子製） 20g/日を投与してから、N K T 細胞数の増加とその機能の活性化が得られ C R となった。この事実は
- 15 硫酸オリゴ糖（株式会社白子製） 20g/日投与により N K T 細胞が活性化したことによると考えられた。

(臨床例 5)

U-フコイダン（商品名：コンブ由来のオリゴ糖）を 15.0g/日投与し、制がん効果の有効例を得た。

- 20 58 才の女性であって、乳癌、肺転移、リンパ節転移、骨転移の症例に NITC 療法を開始した。しかし N K T 細胞活性も I L - 1 2 産生も得られなかったため、4 ヶ月後より  $\alpha$  1 - 3 グルカンを含む U-フコイダン 15.0g/日を投与開始した。それまでは腫瘍マーカーはすべて増加していたが、投与開始 3 ヶ月後には N K T 細胞の割合が 21.1%と著増し、N K T 細胞のパーフォ
- 25 リン産生能力も活性化されて 6.6%となった。その結果、各種腫瘍マーカーは半減し疼痛や食欲不振も改善し P R となった。

この腫瘍マーカーの減少と臨床的改善は、U-フコイダン 15.0g/日投与に



よるNK T細胞数の増加とその機能の活性化によるもの考えられる。

(臨床例 6)

オキナワモズク由来フコイダン を 15.0g/日投与し、制がん効果の有効例を得た。

- 5      69歳の男性、尿管癌と前立腺癌に罹患した症例に NITC 療法を開始したが、  
2年5ヶ月はゆるやかに腫瘍マーカーが増加していた。しかし通常の社会生  
活は可能であった。2年5ヶ月目より  $\alpha$  1-3 グルカン を大量に含むオキナ  
ワモズク由来フコイダン 15.0g/日を投与開始した。その結果3ヶ月後には、  
I L - 1 2 産生増強 (21.2pg/ml) とともに、NK T細胞の割合の増加  
10      (17.5%)、およびNK T細胞のパーフオリン産生能の増強 (5.7%) も得ら  
れた。各種腫瘍マーカーは正常化し、尿管癌、膀胱転移も消失し、さらに前  
立腺癌も消失しCRと判定された。

この著明な臨床的改善はオキナワモズク由来フコイダン 15.0g/日投与に  
より得られたものである。

15      (試験例 1)

- T O G 投与症例におけるCD 3 + CD 1 6 1 +細胞の変動を検討した。新  
免疫療法 (NITC) を施行している担がん症例 1 4 8 例にニゲロオリゴ糖 (T  
O G) 9.0g~18.0g/日を追加投与した。T O G 投与前にはNK T細胞の割合  
は  $16.19 \pm 7.25\%$  であった。全症例で検討すると投与後1ヶ月~6ヶ月まで  
20      NK T細胞数が増加する傾向が認められるものの有意差は認められなかった。  
しかし、CRおよびPR症例の奏効例では投与前値が  $16.95 \pm 9.22\%$  であっ  
たのに対し、投与後1ヶ月で  $22.73 \pm 11.08\%$  と有意に増加しており ( $p <$   
 $0.05$ )、それ以降も高い傾向が認められた。またPD症例でもNK T細胞数は  
有意に上昇していた ( $p < 0.01$ )。一方、PDの悪性腫瘍の進行症例では、治  
療前の値と比較してT O G 投与後2ヶ月目でNK T細胞数が増加する傾向が  
25      認められたものの有意に増加する傾向はなかった。またNK T細胞の割合が  
16.0%を超える症例は長期延命し得ることが判明した。

## (試験例 2)

T O G 投与症例における I L - 1 2 の変動を検討した。新免疫療法 (NITC) を施行している担がん症例 1 4 8 例にニゲロオリゴ糖 (T O G) 9.0g~18.0g/日を追加投与した。追加症例全体では大きな変化は認められな  
5 かった。投与後 1 ヶ月~6 ヶ月まで NK 細胞数が増加する傾向が認められるものの有意差は認められなかった。しかし、C R および P R からなる奏効例 (4 5 例) では 2 ヶ月目で I L - 1 2 の産生が有意に増強されていた ( $p < 0.05$ )。一方、P D 症例 (6 0 例) では、I L - 1 2 の増強作用は認められなかった。

## 10 (試験例 3)

T O G 投与症例における I F N  $\gamma$  の変動を検討した。

T O G 投与 1 4 8 例のうち、奏効例 (C R、P R) 4 5 例は I F N  $\gamma$  産生能力が高値を示す例が多く、それに比較して P D 症例は低値を示す症例が多  
15 かった (図 1~3 を参照)。すなわち、T O G 投与の有効例で I F N  $\gamma$  の高値を持続する症例が多かった。この事実は T O G もまた I F N  $\gamma$  の産生能力を維持する作用を有していることを示唆する。

## (臨床例 7)

ステロイド (20mg/日) 投与臨床例

子宮癌と乳癌の末期がんの症例で、血小板が  $21000\text{mm}^3/\text{ml}$  と著減してシ  
20 ョック状態のため、プレドニゾロン 20mg/日を投与している。また、新免疫療法 (NITC) (茸菌系体成分+鮫軟骨処方) に加えて、オキナワモズク由来フコイダン (15.0g/日) 投与を継続した。

C D 3 + C D 1 6 1 + N K T 細胞の割合は、初診時に 17.8% と増加しており、そのパーフォリン産生能 (PERF) は 7.4% と活性化されている。しかし、  
25 I L - 1 2 産生能力は  $7.8\text{pg/ml}$  以下と低下している。これは、ステロイドにより、①免疫系 (T N F  $\alpha \rightarrow$  I L - 1 2  $\rightarrow$  キラー T 細胞系) が抑制されているためである (図 5)。

## (臨床例 8)

## ステロイド (30mg/日) 投与臨床例

肺腺癌であって、ステロイド 30mg/日投与と放射線照射および NITC 療法と U-フコイダン (15.0g/日) 投与を受けている症例である。IL-12 の産生が 2 回の測定において認められないことから、①免疫系 (TNF $\alpha$ →IL-12→キラーT 細胞系) が抑制されていると考えられる。しかし、NK T 細胞数とそのパーフォリン産生能がいずれも認められることから、NK T が作用する②免疫系 (NK T 細胞活性化→パーフォリン) は維持されていることが示唆された (図 6)。

## 10 (臨床例 9)

## ステロイド (20mg/日) 投与例

肝癌、多発肝転移の末期がん症例であって、ステロイド 20mg/日および NITC 療法とガゴメコンブ由来 F-フコイダン (15.0g/日) が処方されている。①免疫系 (TNF $\alpha$ →IL-12→キラーT 細胞系) に係わる TNF $\alpha$  および IL-12 の産生能力は顕著に低下している。一方、②免疫系 (NK T 細胞活性化→パーフォリン) に係わる NK T 細胞の割合は 15.2%とやや低下傾向は認められるもののある程度保持されている (図 7)。

## (臨床例 10)

## 5FU およびロイコボリン投与例

20 結腸癌症例であって、NITC 療法とニゲロオリゴ糖 (TOG) 12.0g/日の投与を受けている症例である。NITC 療法と TOG 投与開始 3.5 ヶ月目より 5FU およびロイコボリン 600mg/日による化学療法をも行った。IL-12 産生能は、化学療法を行う前には 14.5pg/ml であったが、化学療法後に低下し 7.8pg/ml 以下となった。しかし、CD3+CD161+NK T 細胞の割合は、化学療法施行中も 15.2%と維持されていた。この結果から、化学療法剤により①免疫系 (TNF $\alpha$ →IL-12→キラーT 細胞系) が抑制されたと考えられる。一方、NK T が作用する②免疫系 (NK T 細胞活性化→

パーフォリン)は維持されていることが示された。

(臨床例 1 1)

U F T 投与例

S 状結腸癌症例であって、S 状結腸の切除手術後 4 ヶ月目より、NITC 療法と U-フコイダン 15.0g/日投与を受けている症例である。NITC 療法と U-フコイダン投与開始 1 年 4 ヶ月目より U F T (坐薬、400mg/日)による化学療法をも行ったが、化学療法は 10 ヶ月後に中止した。I L-1 2 産生能は、化学療法を行う前には 10pg/ml 以上に維持されており、最も高いときは 41.5pg/ml であったが、化学療法施行中は 7.8pg/ml 以下に著明に低下した。しかし化学療法中止後、I L-1 2 産生能は回復した。また、C D 3 + C D 1 6 1 + N K T 細胞の割合は、化学療法を施行中も中止後も 10%以上に維持されていた。この結果から、化学療法剤により①免疫系 (T N F  $\alpha$   $\rightarrow$  I L-1 2  $\rightarrow$  キラー T 細胞系) が抑制されたと考えられる。一方、N K T が作用する②免疫系 (N K T 細胞活性化  $\rightarrow$  パーフォリン) は維持されていることが示された。

(臨床例 1 2)

5 F U 投与例

直腸癌症例であって、NITC 療法と硫酸オリゴ糖 (株式会社白子製) 20.0g/日投与を受けている症例である。NITC 療法と硫酸オリゴ糖投与開始 1 ヶ月目より、5 F U 500mg/2 週間による化学療法をも行った。I L-1 2 産生能は、化学療法を行う前には 13.1pg/ml であったが、化学療法施行後は 7.8pg/ml 以下に低下した。また、C D 3 + C D 1 6 1 + N K T 細胞の割合は、化学療法施行中も 13%~15%に維持されていた。この結果から、化学療法剤により①免疫系 (T N F  $\alpha$   $\rightarrow$  I L-1 2  $\rightarrow$  キラー T 細胞系) が抑制されたと考えられる。一方、N K T が作用する②免疫系 (N K T 細胞活性化  $\rightarrow$  パーフォリン) は維持されていることが示された。

(臨床例 1 3)

## CDDP、5FUおよびエンドキサン投与例

乳癌症例であって、NITC療法とオキナワモズク由来フコイダン 15.0g/日投与を受けている症例である。NITC療法とオキナワモズク由来フコイダン投与開始5ヶ月目より、CDDP、5FUおよびエンドキサンの4クール投与による化学療法をも行った。IL-12産生能は、化学療法を行う前には38.3pg/mlまで増加したが、化学療法施行後は7.8pg/ml以下に著明に低下した。また、CD3+CD161+NKT細胞の割合は、化学療法施行中も19%前後に維持されていた。この結果から、化学療法剤により①免疫系(TNF $\alpha$ →IL-12→キラーT細胞系)が抑制されたと考えられる。一方、NKTが作用する②免疫系(NKT細胞活性化→パーフォリン)は維持されていることが示された。

## (臨床例14)

## CDDPおよびタキソテール投与例

肺扁平上皮癌症例であって、NITC療法とU-フコイダン 15.0g/日投与を受けている症例である。NITC療法とU-フコイダン投与開始1.5ヶ月目より、CDDPおよびタキソテールの3クール投与による化学療法をも行った。IL-12産生能は、化学療法を行う前には229pg/mlまで増加したが、化学療法施行後は7.8pg/ml以下に著明に低下した。また、CD3+CD161+NKT細胞の割合は、化学療法施行前には8.1%であったが、化学療法施行後9.1%となり、10%には満たないものの減少はみられず、むしろ若干の増加が認められた。この結果から、化学療法剤により①免疫系(TNF $\alpha$ →IL-12→キラーT細胞系)が抑制されたと考えられる。一方、NKTが作用する②免疫系(NKT細胞活性化→パーフォリン)は維持されていることが示された。

## 25 (臨床例15)

## 放射線療法例

肝臓癌症例であって、NITC療法とニゲロオリゴ糖(TOG) 12.0g/日投

与を受けている症例である。NITC 療法と T O G 投与開始 1 ヶ月目より、前頭部脳転移が認められたため該転移箇所放射線療法を開始し約 3 週間続行した。I L - 1 2 産生能は、放射線療法を行う前には 60.3pg/ml であったが、放射線療法施行後は 8.5pg/ml に著明に低下した。また、C D 3 + C D 1 6 1 + N K T 細胞の割合は、放射線療法施行前には 11.1% であったが、放射線療法施行後には 13.7% と増加した。この結果から、放射線療法により①免疫系 (T N F  $\alpha$   $\rightarrow$  I L - 1 2  $\rightarrow$  キラー T 細胞系) が抑制されたと考えられる。一方、N K T が作用する②免疫系 (N K T 細胞活性化  $\rightarrow$  パーフォリン) は維持されていることが示された。

10 (臨床例 1 6)

放射線療法例

肺癌症例であって、NITC 療法と U - フコイダン 15.0g/日投与を受けている症例である。NITC 療法と U - フコイダン投与開始とほぼ同時期に放射線療法を開始し、約 2.5 ヶ月間後に放射線療法を中止した。I L - 1 2 産生能は、放射線療法施行中には 7.8pg/ml 以下であったが、放射線療法中止後 2 ヶ月目には 46.5pg/ml に著明に増加した。また、C D 3 + C D 1 6 1 + N K T 細胞の割合は、放射線療法の施行中も中止後も、10% 以上に維持されていた。この結果から、放射線療法により①免疫系 (T N F  $\alpha$   $\rightarrow$  I L - 1 2  $\rightarrow$  キラー T 細胞系) が抑制されたと考えられる。一方、N K T が作用する②免疫系 (N K T 細胞活性化  $\rightarrow$  パーフォリン) は維持されていることが示された。

20 (臨床例 1 7)

放射線療法例

乳癌症例であって、NITC 療法とニゲロオリゴ糖 (T O G) 12.0g/日投与を受けている症例である。NITC 療法と T O G 投与開始 5.5 ヶ月目より、骨および脳に転移が認められたため該転移箇所放射線療法を開始した。I L - 1 2 産生能は、放射線療法を行う前には 9.4pg/ml 以上であったが、放射線療法施行後は 7.8pg/ml に低下した。また、C D 3 + C D 1 6 1 + N K T

細胞の割合は、放射線療法施行中にも 17%~19%であった。この結果から、放射線療法により①免疫系 (TNF $\alpha$ →IL-12→キラーT細胞系) が抑制されたと考えられる。一方、NKTが作用する②免疫系 (NKT細胞活性化→パーフォリン) は維持されていることが示された。

#### 5 (臨床例 18)

##### 放射線療法例

胆管癌症例であって、NITC療法と硫酸オリゴ糖 (株式会社白子製) 20.0g/日投与を受けている症例である。NITC療法と硫酸オリゴ糖投与開始とほぼ同時期に放射線療法をも開始し、約1ヶ月後に放射線療法を中止した。IL-12産生能は、放射線療法を行う前には 18.2pg/ml であったが、放射線療法施行中は 9.8pg/ml に低下したが、放射線療法中止後4ヶ月後には、32.9pg/ml に増加した。また、CD3+CD161+NKT細胞の割合は、放射線療法施行中にも 11%~21%であった。この結果から、放射線療法により①免疫系 (TNF $\alpha$ →IL-12→キラーT細胞系) が抑制されたと考えられる。一方、NKTが作用する②免疫系 (NKT細胞活性化→パーフォリン) は維持されていることが示された。

#### (臨床例 19)

##### 放射線療法例

肺腺癌症例であって、NITC療法とオキナワモズク由来フコイダン 15.0g/日投与を受けている症例である。NITC療法とオキナワモズク由来フコイダン投与開始3ヶ月目に、脳および腰椎に転移が認められたため該転移箇所には放射線療法を開始した。IL-12産生能は、放射線療法を行う前には 57.7pg/ml 以上であったが、放射線療法施行後は 7.8pg/ml に低下した。また、CD3+CD161+NKT細胞の割合は、放射線療法施行前には 17.2%であり、放射線療法施行中にも 12.8%であった。この結果から、放射線療法により①免疫系 (TNF $\alpha$ →IL-12→キラーT細胞系) が抑制されたと考えられる。一方、NKTが作用する②免疫系 (NKT細胞活性化→

パーフォリン)は維持されていることが示された。

(臨床例 20)

化学療法、放射線療法、ステロイド投与例

肺癌症例であって、NITC 療法とニグロオリゴ糖 (TOG) 12.0g/日投与  
5 を受けている症例である。NITC 療法と TOG 投与開始とほぼ同時期に、タ  
キソテール 69mg およびシスプラチン 49mg 投与による化学療法を開始した。  
約 3 ヶ月後に化学療法を終了したが、終了後 2.5 ヶ月目に脳転移が認められ  
たため、ガンマナイフによる放射線療法を行った。さらに 1 週間後に放射線  
療法を再度行い、ステロイド投与を 10 日間行った。IL-12 産生能は、  
10 化学療法、放射線療法、およびステロイド投与中には 7.8pg/ml 以下であっ  
たが、これらの療法を終了した後には 65.5pg/ml に増加した。また、CD  
3 + CD 161 + NK T 細胞の割合は、これらの療法中もその後も 17% ~  
20% であった。この結果から、化学療法、放射線療法、ステロイド投与によ  
り①免疫系 (TNF  $\alpha$   $\rightarrow$  IL-12  $\rightarrow$  キラー T 細胞系) が抑制されたと考え  
15 られる。一方、NK T が作用する②免疫系 (NK T 細胞活性化  $\rightarrow$  パーフォリ  
ン) は維持されていることが示された。

産業上の利用の可能性

本発明では、がん免疫を担う活性化された NK T 細胞が関与するカスケー  
20 ドにおいて、NK R-P 1 に選択的に作用する物質として  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造  
の糖類物質の有用性を見出した。そしてこのものが、NK T 細胞の NK R-  
P 1 を刺激し、IFN- $\gamma$  産生を増強し、Th 1 / Th 2 バランスを Th 1  
に誘導し、がん細胞に作用しやすい場を提供するのみならず、NK T 細胞数  
を増加せしめ、かつがん細胞に対する障害作用を持つパーフォリンの産生も  
25 増強していることが判明した。かくして本発明はがん免疫治療における革命  
的な効果を達成したものである。本発明では臨床例および試験例の測定結果  
データをもとに図 4 に示す糖鎖構造と免疫活性の関係を確立した。さらに本



発明では、抗がん剤、放射線、あるいはステロイド療法を行う場合は各種免疫能力の測定は不可欠であり、その結果を踏まえて②の免疫系が強力な場合は温存するべくNK T細胞の活性化すなわち $\alpha 1 \rightarrow 3$ 糖類物質の投与が必要であり、②系統の免疫力が減弱している場合はさらに強力な $\alpha 1 \rightarrow 3$ 糖類物質の大量投与あるいは直接体内投与、例えば注射による投与が必要となることを見いだした。

5

## 請求の範囲

1. ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能における NK T 細胞が  
有するナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R - P 1 (ナ  
5 チュラルキラー受容体 P 1) に対する作用を指標とし、その活性化を維持  
できる処方にて用いられる  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造を持つ糖類を主成分とする組成物。
2. ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能における NK T 細胞が  
有するナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R - P 1 (ナ  
10 チュラルキラー受容体 P 1) に選択的に作用し、その活性化を維持できる  
処方にて用いられることを特徴とする  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造を持つ糖類を  
主成分とする組成物。
3. ナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R - P 1 (ナチ  
ュラルキラー受容体 P 1) に選択的に作用し、その結果としてインター  
15 フェロン  $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ) の大量生産を誘導し、かつ T ヘルパー 1 細胞 /  
T ヘルパー 2 細胞 (Th 1 / Th 2) 比を Th 1 が主に作用する免疫系  
が働く方向に誘導する処方にて用いられる  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造を持つ糖類  
を主成分とする組成物。
4. 細胞表面マーカーである CD 3 および CD 1 6 1 を測定することによ  
20 ってナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R - P 1 (ナ  
チュラルキラー受容体 P 1) の測定を行い、ナチュラルキラー T (NK  
T) 細胞の活性化能を検定する請求の範囲第 1 項から第 3 項のいずれか  
一に記載の組成物。
5. 請求の範囲第 1 項から第 3 項のいずれか一に記載の  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造  
25 を持つ糖類を主成分とする組成物であって、以下の処方のいずれか一に  
選択的に使用される組成物 ;  
1) 抗がん化学療法剤との併用療法への用途、

- 2) 放射線治療との併用療法への用途、
- 3) ステロイド療法との併用療法への用途、
- 4) NK R-P 1 (ナチュラルキラー受容体 P 1) への作用によるナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能が低下したがん患者への用途。

5

6. 細胞表面マーカーである CD 3 および CD 1 6 1 を測定することによってナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R-P 1 (ナチュラルキラー受容体 P 1) の測定を行い、ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能を検定する請求の範囲第 1 項から第 3 項のいずれかに記載の  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造を持つ糖類を主成分とする組成物であって、以下の処方 of のいずれかに選択的に使用される組成物；

10

- 1) 抗がん化学療法剤との併用療法への用途、
- 2) 放射線治療との併用療法への用途、
- 3) ステロイド療法との併用療法への用途、

15

- 4) NK R-P 1 (ナチュラルキラー受容体 P 1) への作用によるナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能が低下したがん患者への用途。

7. 請求の範囲第 1 項から第 3 項のいずれか 1 項に記載の組成物を含む経口摂取用健康補助食品製剤。

20

8. 細胞表面マーカーである CD 3 および CD 1 6 1 を測定することによってナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R-P 1 (ナチュラルキラー受容体 P 1) の測定を行い、ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能を検定する請求の範囲第 1 項から第 3 項のいずれかに記載の組成物を含む経口摂取用健康補助食品製剤。

25

9. 請求の範囲第 1 項から第 3 項のいずれか 1 項に記載の  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造を持つ糖類を主成分とする組成物を含む経口摂取用健康補助食品製剤であって、以下の処方 of のいずれかに選択的に使用される経口摂取用健

康補助食品製剤；

1) 抗がん化学療法剤との併用療法への用途、

2) 放射線治療との併用療法への用途、

3) ステロイド療法との併用療法への用途、

5      4) NK R-P 1 (ナチュラルキラー受容体 P 1) への作用によるナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能が低下したがん患者への用途。

10.    細胞表面マーカーである CD 3 および CD 1 6 1 を測定することによってナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R-P 1 (ナチュラルキラー受容体 P 1) の測定を行い、ナチュラルキラー T (NK  
10    T) 細胞の活性化能を検定する請求の範囲第 1 項から第 3 項のいずれか 1 項に記載の  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造を持つ糖類を主成分とする組成物を含む経口摂取用健康補助食品製剤であって、以下の処方 of のいずれかーに選択的に使用される経口摂取用健康補助食品製剤；

1) 抗がん化学療法剤との併用療法への用途、

15    2) 放射線治療との併用療法への用途、

3) ステロイド療法との併用療法への用途、

4) NK R-P 1 (ナチュラルキラー受容体 P 1) への作用によるナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能が低下したがん患者への用途。

20    11.    請求の範囲第 1 項から第 1 0 項のいずれか 1 項に記載の情報を担持した商業的媒体。

12.    請求の範囲第 1 項から第 1 0 項のいずれか 1 項に記載の情報を利用した商業方法。

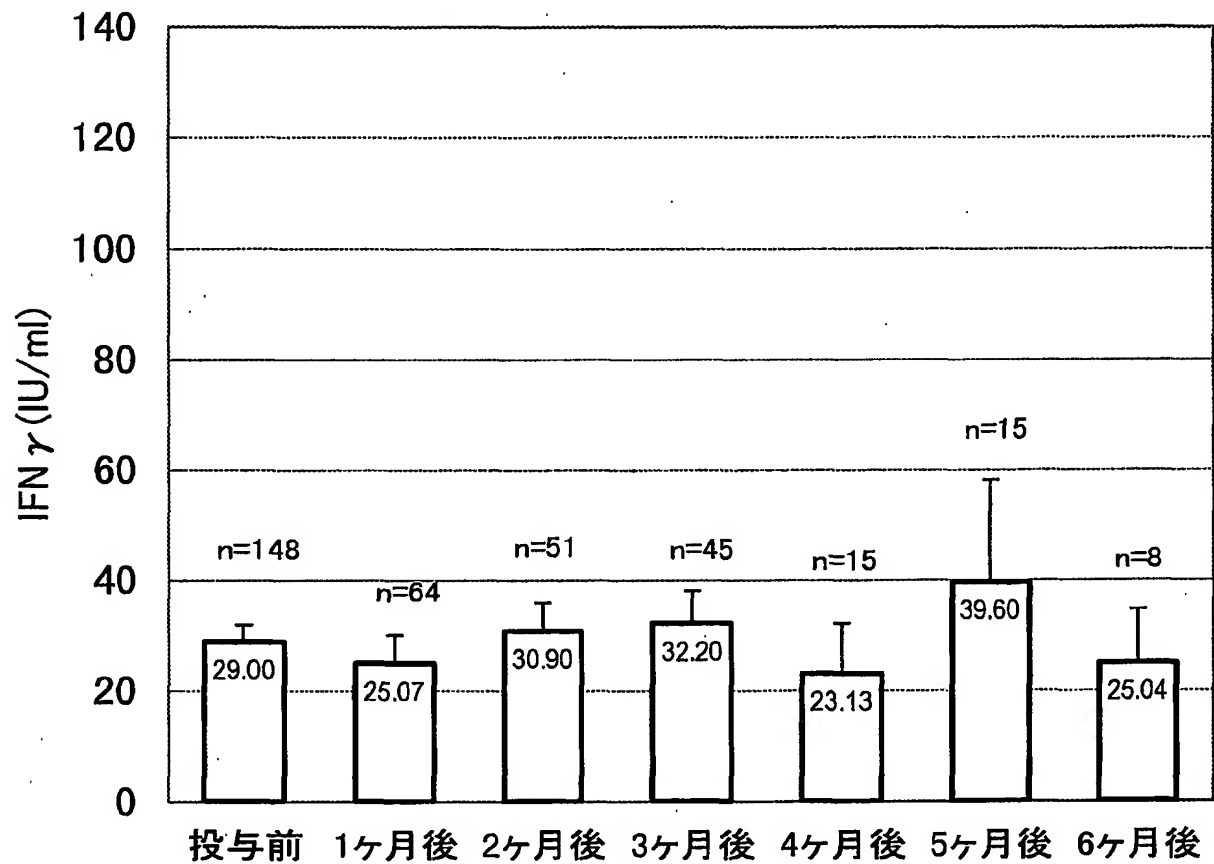
25    13.    ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能における NK T 細胞が有するナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R-P 1 (ナチュラルキラー受容体 P 1) に対する作用を指標としてスクリーニングすることを特徴とする  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造を持つ糖類を主成分とするがん治療剤のスクリーニング方法。

14. ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化における NK T 細胞が有するナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R-P 1 (ナチュラルキラー受容体 P 1) に対する作用を指標としてスクリーニングすることを特徴とする  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造を持つ糖類を主成分とするがん治療剤のスクリーニング方法であって、該 NK T 細胞の活性化を細胞表面マーカーである CD 3 および CD 1 6 1 の測定により NK R-P 1 (ナチュラルキラー受容体 P 1) の測定を行うことで検定するスクリーニング方法。
15. ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能における NK T 細胞が有するナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R-P 1 (ナチュラルキラー受容体 P 1) に対する作用を指標として検査することを特徴とする  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造を持つ糖類を主成分とする組成物の有用性判定のための検査手段。
16. ナチュラルキラー T (NK T) 細胞の活性化能における NK T 細胞が有するナチュラルキラー (NK) 細胞抗原受容体である NK R-P 1 (ナチュラルキラー受容体 P 1) に対する作用を指標として検査することを特徴とする  $\alpha 1 \rightarrow 3$  立体構造を持つ糖類を主成分とする組成物の有用性判定のための検査手段であって、該 NK T 細胞の活性化能を細胞表面マーカーである CD 3 および CD 1 6 1 の測定により NK R-P 1 (ナチュラルキラー受容体 P 1) の測定を行うことで検定することを特徴とする検査手段。
17. 請求の範囲第 1 5 項または第 1 6 項の検査手段を医療機関との連携においてがん治療の補助手段とする商業方法。

1/7

図 1

対象全症例 (n=148)



2/7

図 2

CR, PR 症例 (n=45)

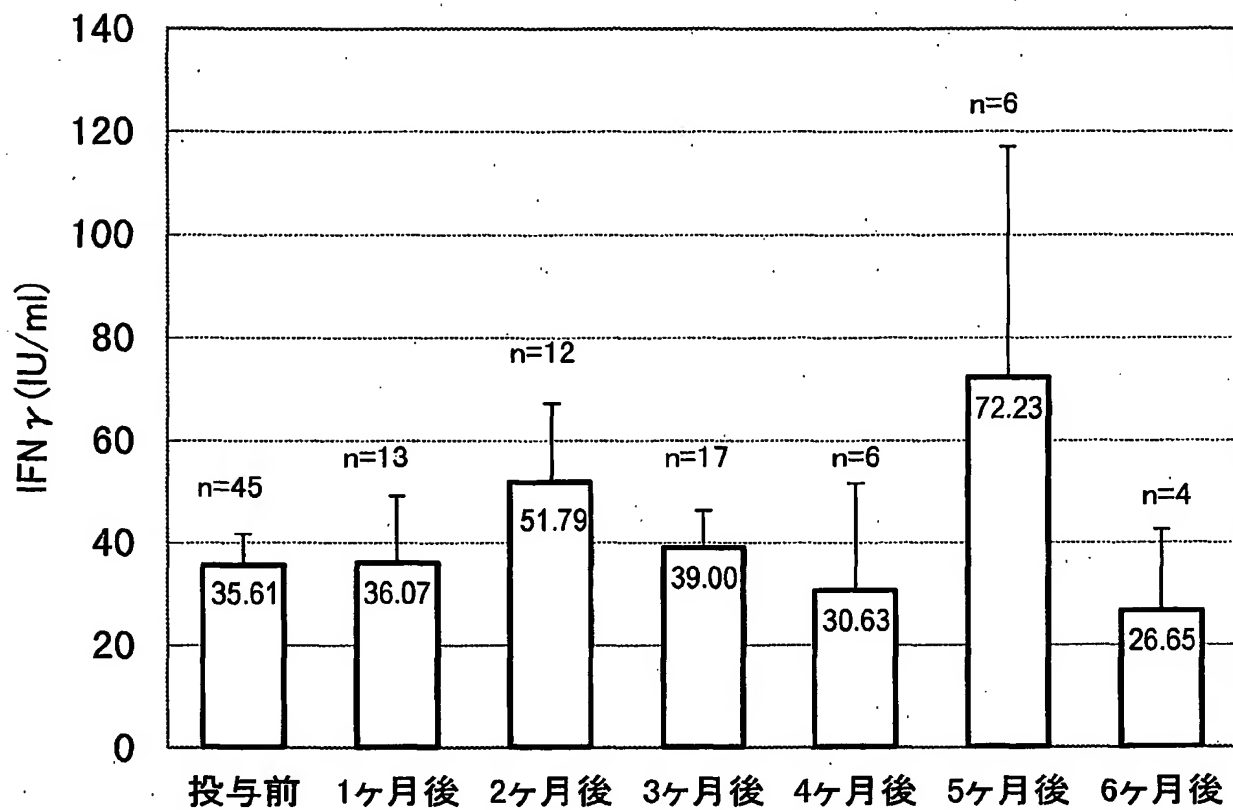


図 3

PD 症例 (n=60)

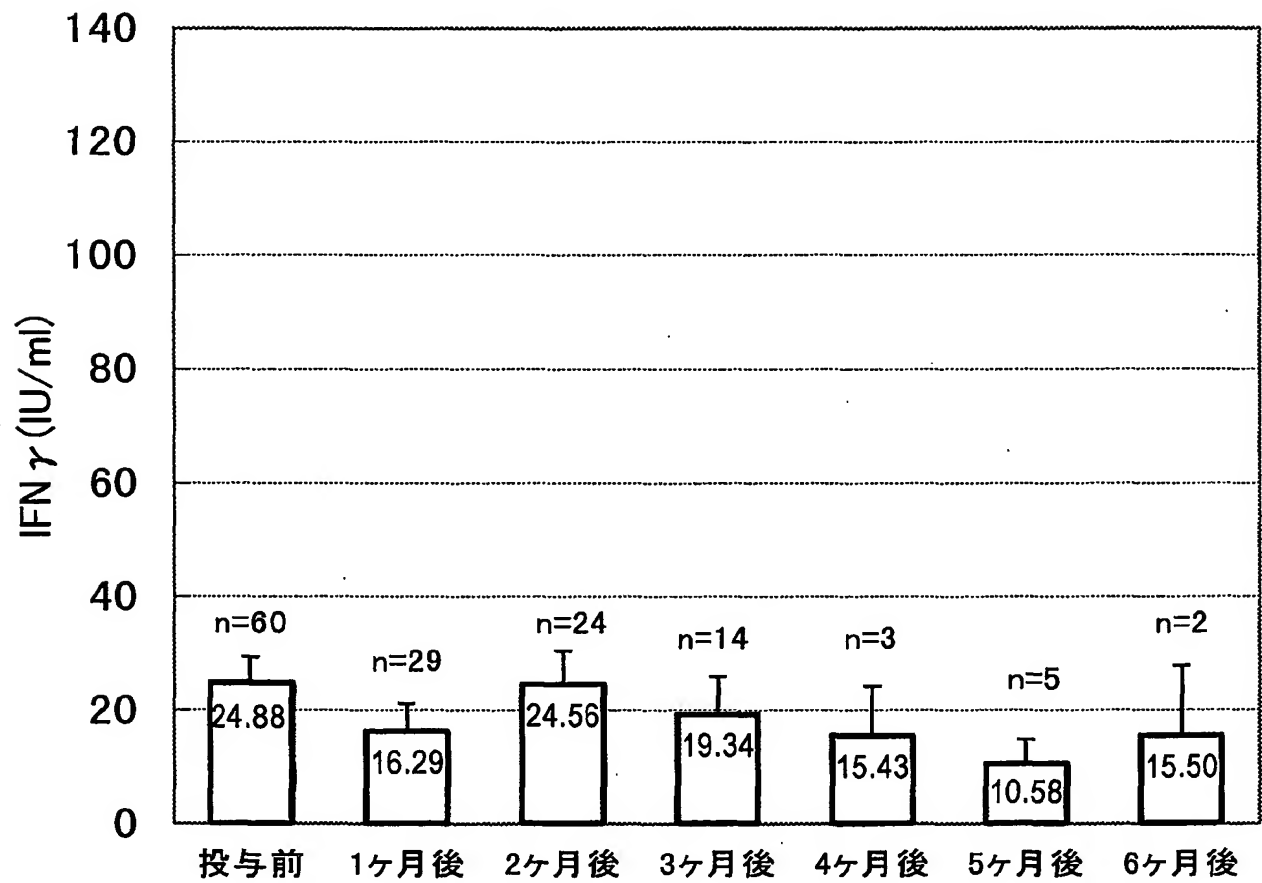




図 4

	糖鎖立体構造	
	$\beta$ 1-3 $\beta$ 1-6	$\alpha$ 1-3
IL-12産生能力	( 卅 ~ 卅 )	( + ~ 士 )
IFN $\gamma$ 産生能力	( 卅 )	( 卅 )
NKT細胞 のNK受容体 活性化	( + ~ 士 )	( 卅 ~ 卅 )

☒ 5

ステロイド(20mg/日)投与例 化学療法(ノルバテックス)併用

F 子宮頸癌、乳癌

初診日	検査日	診療 期間 (月)	CD3+ CD161+ (16%)	CD3+ CD161+ PERF (4.3%)	TH1 /TH2 (CD4) 比 (7以上)	TNF $\alpha$ (1000pg /ml)	IFN $\gamma$ (10IU /ml)	IL-12 (7.8pg /ml)	IL-10 (pg/ml)	CEA (コソ法) (2.5ng /ml)	TPA (70U/l)	CA19-9 (37U /ml)	NCC- ST-439 (7.0U /ml)
2000 /12/12	2000 /12/12	0	17.8	7.4	14.9	1560	13.7	7.8	284	1	11	6	2.5
	2001 /1/16	1								1	10	6	3.3
	2001 /2/13	2	15.6	4.5	12.6	3160	98.5	13.2	441	1.2	10	6	2.3

CA15-3 (30U /ml)	BCA225 (160U /ml)	シリル LEX-1 (38U /ml)	SCC (1.5ng /ml)	シワ (CK19 フラグメント) (3.5ng /ml)	ProGRP (46.0pg /ml)	サイロ グロブリン (30ng /ml)	1CTP (4.5ng /ml)	IL-2 レセプター (220- 530U /ml)
13	34	24	0.5	1.0	10.2	2100	3.4	284
21	34	23	0.5	1.0	12.9	1900	3.5	306
13	40	22	0.5	1.0			2.8	504

6/7

☒ 6

## ステロイド(30mg/日)投与例 放射線併用

## M 肺腺癌.

初診日	日付	診療 期間 (月)	CD3+ CD161+ (16%)	CD3+ CD161+ PERF (4.3%)	TH1 /TH2 (CD4) 比 (7以上)	TNF $\alpha$ (1000pg /ml)	IFN $\gamma$ (10IU /ml)	IL-12 (7.8pg /ml)	IL-10 (pg/ml)	CEA (コリウ法) (2.5ng /ml)	TPA (70U/l)	NCC- ST-439 (7.0U /ml)	CA15-3 (30U /ml)	シアル LEX-1 (38U /ml)	1CTP (4.5ng /ml)	カヨセ IL-2 レセプター (220- 530U /ml)
2000 /11/27	2000 /11/27	0	11.8	6.1	38.4	400	0.5	7.8>	189	9.5	76	8.4	56	77	7.5	1000
	2000 /12/21	1								14.3	60	7.4	51	53	5.8	754
	2001 /1/23	2	14.2	8.2	66.2	440	0.7	7.8>	199	9.5	10>	6.8	43	78	5.7	634
	2001 /2/21	3								6.4	39	4.7	35	57	4.5	576

図 7

ステロイド(30mg/日)投与例

M 膀胱 多発肝転移

初診日	検査日	CD3+ CD161+ (16%)	CD3+ CD161+ PERF (4.3%)	TH1 /TH2 (CD4) 比 (7以上)	TNF α (1000pg /ml)	IFN γ (10IU /ml)	IL-12 (7.8pg /ml)	IL-10 (pg/ml)	TPA (70U/l)	DUPAN -2 (150U /ml)	CA19-9 (37U /ml)	CA15-3 (30U /ml)	シリアル LEX-1 (38U /ml)	CA72-4 (4.0U /ml)	STN コウケン (45U /ml)	NSE (RIA) (10ng /ml)	BFP (75ng /ml)	1CTP (4.5ng /ml)	カウセ4 IL-2 シテ7タ- (220- 530U /ml)
2000 /12/11	2001 /1/4	15.2	3.6	21	20	0.6	7.8>	37	210	390	930	46	190	3.0>	22	8.1	240	9.4	1720

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/03621

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> A61K31/7016, 702, 737, A61P35/00, C12Q1/02, A23L1/30 // C07H3/04, 06, C08B37/00, G06F17/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A61K31/7016, 702, 737, A61P35/00, C12Q1/02, A23L1/30, C07H3/04, 06, C08B37/00, G06F17/30

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN), REGISTRY (STN), MEDLINE (STN), WPI/L (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	Hisashi ARASE, et al., "Interferon $\gamma$ Production by Natural Killer (NK) Cells and NK1.1+T Cells upon NKR-P1 Cross-linking", J. Exp. Med, Vol.183, (May, 1996), pages 2391 to 2396; Full text	1-10, 13 14
Y A	Hisashi ARASE, "NKT Saibou no cytokine Sansei to sono Igi", Saishin Igaku, Vol.55, No.4, 10 April, 2000 (10.04.00), pages 818 to 823; Full text	1-10, 13 14
Y A	KAREL BEZOUSKA, et al., "Oligosaccharide ligands for NKR-P1 protein activate NK cells and cytotoxicity", Nature, Vol.372, 10 November, 1994 (10.11.94), pages 150 to 157; Full text	1-10, 13 14



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:  
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
 "E" earlier document but published on or after the international filing date  
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
24 May, 2001 (24.05.01)

Date of mailing of the international search report  
05 June, 2001 (05.06.01)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/03621

## Continuation of Box No. I-2 of continuation of first sheet (1)

1) Although it is stated in claim 11 "information as set forth in any of claims 1 to 10", the above claims do not disclose what the information is. Therefore, it is impossible to specify the "information" as stated in claim 11.

2) It is impossible to specify the constitution of the "examination means" as described in claims 15 and 16.

## Continuation of Box No. II of continuation of first sheet (1)

It is recognized that the present application consists of the following three groups of inventions I) to III).

I) The inventions as set forth in claims 1 to 6 relate to compositions for activating NKT cells which contain as the main ingredient saccharides having an  $\alpha 1 \rightarrow 3$  three-dimensional structure and act on NKR-P1, while the inventions as set forth in claims 7 to 10 relate to specific uses (foods) of the above compositions. It is tentatively understood that the inventions as set forth in claims 13 and 14 relate to processes for producing the above compositions.

II) The invention as set forth in claim 11 relates to a commercial medium carrying specific information.

III) The inventions as set forth in claims 15 and 16 relate to examination means for evaluating the usefulness of compositions containing as the main ingredient saccharides having an  $\alpha 1 \rightarrow 3$  three-dimensional structure.

However, the compositions as set forth in claims 1 to 6 are not utilized in the commercial medium as set forth in claim 11. Also, the examination means as set forth in claims 15 and 16 do not aim at evaluating the usefulness of the compositions for specific uses as set forth in claims 1 to 6.

Such being the case, the above-described groups of inventions II) and III) are not considered as being so linked to the group of the inventions I) as to form a single general inventive concept.

Best Available Copy

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K31/7016, 702, 737, A61P35/00, C12Q1/02, A23L1/30 // C07H3/04, 06, C08B37/00, G06F17/30

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K31/7016, 702, 737, A61P35/00, C12Q1/02, A23L1/30, C07H3/04, 06, C08B37/00, G06F17/30

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), REGISTRY (STN), MEDLINE (STN), WPI/L (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	HISASHI ARASE, et al., "Interferon $\gamma$ Production by Natural Killer (NK) Cells and NK1.1 <sup>+</sup> T Cells upon NKR-P1 Cross-linking", J. Exp. Med, Vol. 183 (May 1996) p. 2391-2396, 全文参照。	1-10, 13 14
Y A	荒瀬 尚 "NK T細胞のサイトカイン産生とその意義", 最新医学, 第55巻, 第4号, 10. 4月. 2000 (10. 04. 00), 第818-823頁, 全文参照。	1-10, 13 14
Y A	KAREL BEZOUSKA, et al., "Oligosaccharide ligands for NKR-P1 protein activate NK cells and cytotoxicity", NATURE, Vol. 372, 10. 11月. 1994 (10. 11. 94), p. 150-157, 全文参照。	1-10, 13 14

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

24. 05. 01

国際調査報告の発送日

05.06.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

中木 亜希



4 P

9282

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

## 第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 12, 17 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。  
つまり、  
請求の範囲12及び17に記載された発明は、事業活動であると認められる。
2. ☒ 請求の範囲 11, 15, 16 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、  
(特別ページを参照。)
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

(特別ページを参照。)

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。



## 第 I 欄 2. の続き

1) 請求の範囲 1 1 には「請求の範囲第 1 項から第 1 0 項のいずれか 1 項に記載の情報」と記載されているが、上記請求の範囲には情報が何であるのか記載されていないので、請求の範囲 1 1 に記載の「情報」がいかなるものであるのか特定することができない。

2) 請求の範囲 1 5 及び 1 6 に記載の「検査手段」がいかなるものから構成されるのか特定することができない。

## 第 I I 欄の続き

本願は下記 I) ~ I I I) の 3 つの発明群からなると認められる。

I) 請求の範囲 1 - 6 には、 $\alpha$  1  $\rightarrow$  3 立体構造を持つ糖類を主成分とし、NKR-P 1 に作用し、NK T 細胞を活性化させるための組成物に係る発明が記載されており、請求の範囲 7 - 1 0 には、上記組成物の特定用途（食品）に係る発明が記載されている。また、請求の範囲 1 3 及び 1 4 には、上記組成物を製造する方法に係る発明が記載されていると一応認められる。

I I) 請求の範囲 1 1 には、特定の情報を担持した商業的媒体に係る発明が記載されている。

I I I) 請求の範囲 1 5 及び 1 6 には、 $\alpha$  1  $\rightarrow$  3 立体構造を持つ糖類を主成分とする組成物の有用性を判断するための検査手段に係る発明が記載されている。

しかしながら、請求の範囲 1 1 に記載の商業的媒体は、請求の範囲 1 - 6 に記載された組成物を利用するものではなく、また、請求の範囲 1 5 及び 1 6 に記載の検査手段は、請求の範囲 1 - 6 に記載された特定用途の組成物の有用性を判断するものでもない。

したがって、上記の発明群 I I) 及び発明群 I I I) は、発明群 I) と単一の一般的発明概念を形成するように連関しているものとは認められない。